

ヒト膀胱癌における第6番染色体長腕上の3カ所の共通欠失領域の同定

著者	阿部 忠義
号	1554
発行年	1999
URL	http://hdl.handle.net/10097/21785

氏 名（本籍）	阿 ^あ 部 ^べ 忠 ^{ただ} 義 ^{よし}
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医 博 第 1 5 5 4 号
学位授与年月日	平 成 11 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）外科学系専攻
学 位 論 文 題 目	Identification of Three Commonly Deleted Regions on Chromosome Arm 6q in Human Pancreatic Cancer. （ヒト膵癌における第 6 番染色体長腕上の 3 カ所 の共通欠失領域の同定）
論文審査委員	（主 査） 教授 松 野 正 紀 教授 下瀬川 徹 教授 野 田 哲 生

論文内容要旨

研究目的

膀胱癌を克服するためにはその癌化のメカニズムを解明し、合理的な新しい治療法を開発しなければならない。その第一歩として分子レベルでの遺伝子異常を解明することが必要である。しかし、今まで知られている遺伝子異常だけでは、癌化のメカニズムは説明できておらず、未知の遺伝子異常を探し出すことが急務である。癌における LOH は癌抑制遺伝子とその領域に存在している可能性があると考えられている。本研究は膀胱癌において高頻度に欠失している 6q に着目し、癌抑制遺伝子の存在している可能性のある共通欠失領域を LOH の解析から可能な限り狭め、未知の癌抑制遺伝子を同定することを目標としている。

研究方法

今回私は膀胱癌 55 例の腫瘍部位と正常組織の DNA を採取し、第 6 番染色体長腕全体を網羅するように 30 個のマイクロサテライトマーカーを用いて loss of heterozygosity (LOH) を調べた。さらに yeast artificial chromosome (YAC), bacterial artificial chromosome (BAC), cosmid をもちいて物理的遺伝子地図を作成した。

研究結果

LOH 解析は、膀胱癌 55 例を用い 6q の 30ヶ所のマイクロサテライトマーカーを使用して行った。LOH が少なくとも一ヶ所以上みられた症例は、43 例 (78%) であった。LOH 解析から 3ヶ所の共通欠失領域が判明した。1 つ目は 6q21 に位置する D6S283 と D6S449 の間で 1cM 以内の領域である (領域 A)。2 つ目は 6q23-q24 に位置する D6S292 と D6S308 の間で、7cM の距離がある (領域 B)。3 つ目は 6q26 に位置する D6S305 から D6S264 にいたる 13cM の領域である (領域 C)。これら 3 つの領域の LOH の頻度はそれぞれ領域 A が 69% (38/55), 領域 B が 60% (33/55), 領域 C が 51% (28/55) であった。LOH の有無と臨床病理学的事項 (年齢, 性, 組織型, 病期, 予後) との相関を調べたが有意な差はなかった。領域 A は 3 つの中で最も狭く、また、もっとも高頻度に LOH がみられるため、私はこの領域に注目し、さらにこの領域の YAC, BAC をもちいた物理的遺伝子地図を作成した。y715A7 (500kb) は第 6 番と、第 20 番染色体とのキメラであるとされていることから、y715A7 で覆われる領域 A は 500kb 以下である可能性が高いといえる。BAC clone をもちいて領域 A の contig をつくった結果、この領域は 3 つの BAC clone (b515A4, b576A9, b526L14) により網羅できることが判明した。さらに第 6 番染色体のみをも

つ y902F9 から作り上げた cosmid clone により、物理的遺伝子地図を構築し、非常に近い距離で相対的な位置関係がわからなかったマイクロサテライトマーカーの順序が決まり、6cen-D6S1543-D6S449-D6S1642-D6S1709-D6S283-D6S434-6qter であることがわかった。

考 察

本研究において、6q の詳細な欠失地図を作成した結果、膀胱における 6q の 3 箇所の共通欠失領域があることが判明した。これら 3 つの領域の LOH と臨床病理学的事項（年齢、性、組織型、病期、予後）との相関を調べたが、特に有意差はでなかった。臨床病理学的事項との関係はさらに研究を押し進め、検討することが必要と思われる。3 つの領域の中でも D6S449 と D6S283 の間の領域（領域 A）は最も高頻度に欠失しており、その領域を覆う YAC から領域 A は 500kb 以下の長さであることが推測される。物理的遺伝子地図を作製した結果、この領域は 3 つの BAC clone (b515A4, b576A9, b526L14) によって覆われることを明らかになった。近年、hereditary mixed polyposis syndrome (HMPS) の家系のリンケージ解析により、その原因遺伝子は 6q21 の D6S283 の近傍 3cM の領域に map され、領域 A と重なることがわかった。HMPS は若年性ポリープ、大腸腺腫、大腸癌を特徴とする疾患であり、HMPS の原因遺伝子が、膀胱において何らかの役割を果たしている可能性がある。領域 B は 6q23-q24 にあり、D6S292 と D6S308 に囲まれる 7cM の領域である。Griffin らが cytogenetic study と FISH を組み合わせ、膀胱における 6q24-q25 の欠失領域を報告しているが、領域 B は同様の欠失領域なのかもしれない。癌抑制遺伝子の存在が、強く示唆される領域といえる。領域 C は 6q26 にあり、D6S305 と D6S264 の間、13cM である。この領域は、癌化に関与している可能性がある遺伝子がいくつか map されており、非常に興味深い。この領域もまた、LOH と膀胱の発癌との関係を調べていく必要があるが、非特異的な telomeric deletion なのかもしれない。

結 論

膀胱において 6q に 3 箇所の共通欠失領域を同定した。そのなかでも最も高頻度に欠失している D6S449 と D6S283 の間は、3 つの BAC clone (b515A4, b576A9, b526L14) によって完全に網羅されることが判明した。この領域をさらに詳細に解析し、癌関連遺伝子の候補を探し出す必要があると思われた。

審 査 結 果 の 要 旨

膵癌を克服するためにはその癌化のメカニズムを解明し、合理的な新しい治療法を開発しなければならない。その第一歩として分子レベルでの遺伝子異常を解明することが必要である。しかし、今まで知られている遺伝子異常だけでは、癌化のメカニズムは説明できておらず、未知の遺伝子異常を探し出すことが急務である。癌における LOH (loss of heterozygosity) は癌抑制遺伝子とその領域に存在している可能性があると考えられている。本研究は膵癌において高頻度に欠失している第 6 番染色体長腕 (6q) に着目し、癌抑制遺伝子の存在している可能性のある共通欠失領域を LOH の解析から可能な限り狭め、未知の癌関連遺伝子の存在を示唆したものである。

LOH 解析は、膵癌 55 例を用い 6q の 30 ケ所のマイクロサテライトマーカーを使用して行っている。LOH 解析から 3 ケ所の共通欠失領域が判明している。1 つ目は 6q21 に位置する D6S283 と D6S449 の間で 1cM 以内の領域である (領域 A)。2 つ目は 6q23-q24 に位置する D6S292 と D6S308 の間で、7cM の距離がある (領域 B)。3 つ目は 6q26 に位置する D6S305 から D6S264 にいたる 13cM の領域である (領域 C)。これら 3 つの領域の LOH の頻度はそれぞれ領域 A が 69% (38/55)、領域 B が 60% (33/55)、領域 C が 51% (28/55) であった。LOH の有無と臨床病理学的事項 (年齢、性、組織型、病期、予後) との相関には有意な差はでていない。領域 A は 3 つの中で最も狭く、また、もっとも高頻度に LOH がみられるため、さらにこの領域の YAC, BAC をもちいた物理的遺伝子地図を作成している。BAC clone をもちいた領域 A の contig の結果、この領域は 3 つの BAC clone (b515A4, b576A9, b526L14) により網羅できることが判明した。近年、hereditary mixed polyposis syndrome (HMPS) の家系のリンケージ解析により、その原因遺伝子は 6q21 の D6S283 の近傍 3cM の領域に map され、領域 A と重なることがわかった。HMPS は若年性ポリープ、大腸腺腫、大腸癌を特徴とする疾患であり、HMPS の原因遺伝子が、膵癌において何らかの役割を果たしている可能性がある。

以上から、本研究は膵癌の癌関連遺伝子の候補部位を絞り込んだ独創性にとみ、優れた研究であり、学位に値するものである。